

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-048438

(43)Date of publication of application : 21.02.1995

(51)Int.Cl.

C08G 63/06  
C12P 7/62  
// (C12P 7/62  
C12R 1:05 )

(21)Application number : 05-215004

(71)Applicant : CHIKYU KANKYO SANGYO  
GIJUTSU KENKYU KIKO  
RIKAGAKU KENKYUSHO

(22)Date of filing : 05.08.1993

(72)Inventor : DOI YOSHIHARU  
KITAMURA SHIRO

## (54) COPOLYMER AND PRODUCTION THEREOF

## (57)Abstract:

PURPOSE: To provide the copolymer containing specific compound units, excellent in biodegradability and plasticity, and useful for various plastic products.

CONSTITUTION: The copolymer containing 3-hydroxy-2-methylpropionate units. The polymer is obtained preferably by culturing the strain of the genus *Alcaligenes* in the presence of 3-hydroxy-2-methylpropionic acid as a carbon source and in the presence of limited amounts of essential nutritive sources excluding the carbon source. The copolymer is preferably a terpolymer comprising 60-90mol.% of 3-hydroxy butyrate units, 1-20mol.% of 3-hydroxy-2-methylpropionate units, and 5-39mol.% of 3-hydroxyvalerate units, and the copolymer is preferably obtained by culturing the strain of the genus *Alcaligenes* in the presence of 3-hydroxy-2-methylpropionic acid, glucose, fructose, propionic acid and valeric acid as carbon sources and in the presence of essential nutritive sources excluding the carbon sources.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 24.04.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3457360

[Date of registration] 01.08.2003

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-48438

(43) 公開日 平成7年(1995)2月21日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 8 G 63/06	N L P			
C 1 2 P 7/62	Z A B	7432-4B		
// (C 1 2 P 7/62				
C 1 2 R 1:05)				

審査請求 未請求 請求項の数 8 F D (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願平5-215004

(22) 出願日 平成5年(1993)8月5日

(71) 出願人 591178012

財団法人地球環境産業技術研究機構

京都府相楽郡木津町木津川台9丁目2番地

(71) 出願人 000006792

理化学研究所

埼玉県和光市広沢2番1号

(72) 発明者 土肥 義治

埼玉県和光市広沢2番1号 理化学研究所  
内

(72) 発明者 北村 志郎

東京都港区西新橋2丁目8番11号 第7東  
洋海事ビル8階 財団法人 地球環境産業  
技術研究機構内

(74) 代理人 弁理士 細田 芳徳

(54) 【発明の名称】 共重合体およびその製造法

(57) 【要約】

【構成】本発明は、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート(3H2MP)ユニットを含有することを特徴とする共重合体、並びに炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸を用い、炭素源以外の必須栄養素の制限下にアルカリゲネス属に属する菌株を培養することを特徴とする、3H2MPユニットを含有する共重合体の製造法に関する。

【効果】本発明の共重合体は、構成成分である3H2MPモノマーユニットの存在によりコポリマー構造の規則性が崩れ、結晶性が低下し、そのため可塑性が増す等のポリマー物性の改良が期待されたものであり、生分解性のプラスチックとして優れた性質を有する。

1

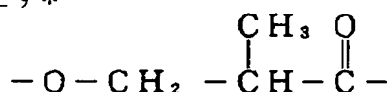
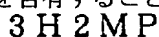
2

## 【特許請求の範囲】

\* 共重合体。

【請求項1】 3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニットを含有することを特徴とする\*

【化1】

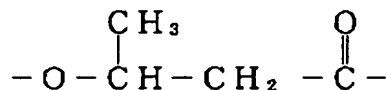


【請求項2】 3-ヒドロキシブチレート (3HB) ユニットを60～90モル%、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニットを1～10モル%、および3-ヒドロキシバリレート (3HV) ユニ

※【請求項3】 3-ヒドロキシブチレート (3HB) ユニットを60～90モル%、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニットを1～10モル%、3-ヒドロキシバリレート (3HV) ユニットを5～39モル%、および4-ヒドロキシブチレート (4HB) ユニットを1～34モル%有してなる4成分系共重合体。

【化2】

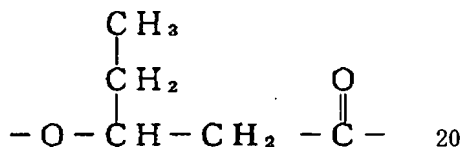
3HB



【化4】

【化3】

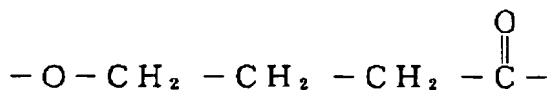
3HV



20

4HB

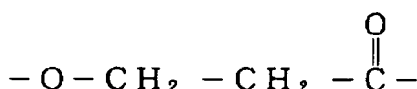
※



【請求項4】 3-ヒドロキシブチレート (3HB) ユニットを60～90モル%、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニットを1～10モル%、3-ヒドロキシバリレート (3HV) ユニットを★

★5～39モル%、および3-ヒドロキシプロピオネート (3HP) ユニットを1～15モル%有してなる4成分系共重合体。

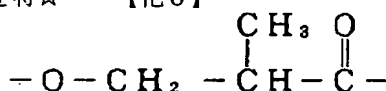
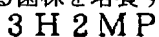
【化5】



【請求項5】 炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸を用い、炭素源以外の必須栄養素の制限下にアルカリゲネス属に属する菌株を培養することを特☆

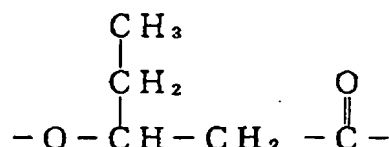
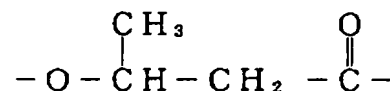
☆徴とする、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニットを含有する共重合体の製造法。

【化6】



【請求項6】 炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸の他に、グルコース、フルクトース、プロピオン酸および吉草酸よりなる群から選ばれる少なくとも1種を用い、炭素源以外の必須栄養素の制限下にアルカリゲネス属に属する菌株を培養することを特徴とする、3-ヒドロキシブチレート (3HB) ユニット、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニットおよび3-ヒドロキシバリレート (3HV) ユニットからなる3成分系共重合体の製造法。

40 3HB

【化8】  
3HV

【化7】

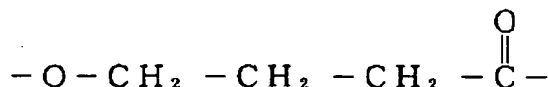
【請求項7】 炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸の他に、4-ヒドロキシ酪酸および/ま

50

3

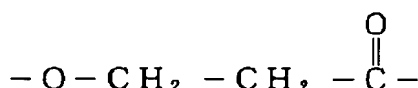
たはγ-ブチロラクトンを用い、炭素源以外の必須栄養素の制限下にアルカリゲネス属に属する菌株を培養することを特徴とする、3-ヒドロキシブチレート (3HB) ユニット、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニット、3-ヒドロキシバリレート\*

4HB



【請求項8】 炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸の他に、3-ヒドロキシプロピオンおよび/または1,5-ペンタンジオールを用い、炭素源以外の必須栄養素の制限下にアルカリゲネス属に属する菌株を培養することを特徴とする、3-ヒドロキシブチレート (3HB) ユニット、3-ヒドロキシ-2-メチル\*

3HP



# 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は新規な共重合体およびその製造法に関する。さらに詳しくは、自然環境下で微生物の作用を受けて分解するプラスチック様高分子およびその製造法に関するものである。

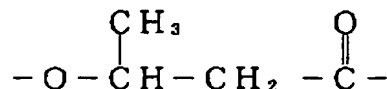
## 【0002】

【従来の技術・発明が解決しようとする課題】現在まで数多くの微生物において、エネルギー貯蔵物質としてポリエステルを菌体内に蓄積することが知られている。その代表例がポリ-3-ヒドロキシブチレート (以下、P (3HB) と略す) であり、下記の式で示されるモノマーユニット (3HB) からなるホモポリマーである。

## 【0003】

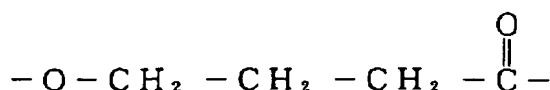
### 【化11】

3HB



【0004】P (3HB) は確かに自然環境 (土壌、河川、海) の下で生物的に分解するいわゆる生分解性プラスチックであるが、結晶性が高く、硬く、かつ脆い性質を持っており、高分子材料としてみた場合、実用性に乏しいものであった。このような欠点を克服する方法として、ポリエステルを構成しているモノマーユニットとして3HBとは異なるモノマーユニットをコポリマーとし★

4HB



【0007】一方、特開昭63-226291号公報は、炭化水素資化菌であるシュドモナス・オレオボラ

50

4

\*ト (3HV) ユニットおよび4-ヒドロキシブチレート (4HB) ユニットからなる4成分系共重合体の製造法。

## 【化9】

10※プロピオネート (3H2MP) ユニット、3-ヒドロキシバリレート (3HV) ユニットおよび3-ヒドロキシプロピオネート (3HP) ユニットからなる4成分系共重合体の製造法。

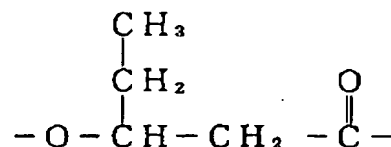
## 【化10】

20★て組み込むことが提案されている。例えば、特開昭57-150393号公報、特開昭58-69225号公報、特開昭63-269989号公報、特開昭64-48821号公報、特開平1-156320号公報によれば、本来P (3HB) を産生する微生物であるアルカリゲネス・ユートロファスを培養する際に、炭素源としてグルコースのような糖の他に、炭素数が奇数個のカルボン酸、例えばプロピオン酸や吉草酸を与えることにより、3HBと共に3-ヒドロキシバリレート (以下3HVと略す) をポリエステルの構成モノマーとする2成分系共重合体P (3HB-co-3HV) が得られている。同様に炭素源として4-ヒドロキシ酪酸やγ-ブチロラクトンを与えることにより、3HBと共に4-ヒドロキシブチレート (以下4HBと略す) をポリエステルの構成モノマーとする2成分系共重合体P (3HB-co-4HB) が得られている。

## 【0005】

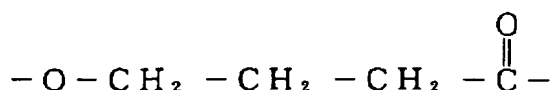
### 【化12】

3HV



## 【0006】

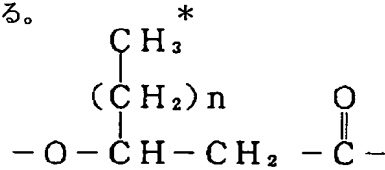
### 【化13】



ンス (菌寄託番号; ATCC29347) に炭素源としてアルカンを与えることにより、炭素数が6~12まで

の 3-ヒドロキシアルカノエート (以下 3HA と略す) \* 【0008】  
をモノマーユニットとする共重合体 P (3HA) を発酵 【化14】  
合成することができることを報告している。

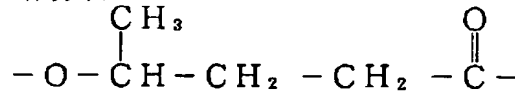
3HA



(n = 2, 4, 6, 8)

【0009】さらに、USP 5, 138, 029 (特開 10※重合体 P (3HB-co-3HV-co-4HV) が得  
平 2-179170 号公報) によれば、上記したアルカ られている。  
リゲネス・ユートロファスを培養する際、炭素源として 【0010】  
γ-バロラクトンを与えると下記のような 4-ヒドロ 【化15】  
キシバリレート (以下 4HV と略す) を含む 3 成分系共※

4HV

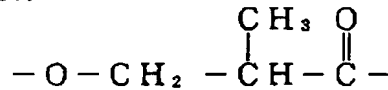


【0011】このように現在までに知られている微生物  
産生ポリエステルは、カルボニル炭素から数えて 3~4  
位の炭素原子にアルキル基が結合した構造を持つユニッ  
トからなっている。しかし、2位の炭素原子にアルキル  
基が結合したモノマーユニットを含むポリエステルはこ  
れまで報告されていない。

【0012】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、カルボニ  
ル炭素から数えて 2 位の炭素原子にアルキル基が結合し  
たモノマーユニットを含む共重合体を発酵合成させる方★

3H2MP

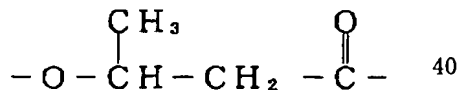


【0015】(2) 3-ヒドロキシブチレート (3HB)  
ユニットを 60~90 モル%、3-ヒドロキシ-2-  
メチルプロピオネート (3H2MP) ユニットの 1~  
10 モル%、および 3-ヒドロキシバリレート (3HV)  
ユニットを 5~39 モル%有してなる 3 成分系共重  
合体、

【0016】

【化17】

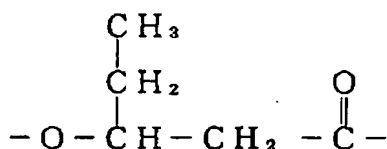
3HB



【0017】

【化18】

3HV



★法を研究していたところ、分岐したヒドロキシ脂肪酸を  
炭素源として微生物に与えると目的が達成されることを  
見出し、さらに研究を重ねて本発明を完成するに至っ  
た。

【0013】即ち、本発明の要旨は、(1) 3-ヒド  
ロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニ  
ットを含有することを特徴とする共重合体、

【0014】

【化16】

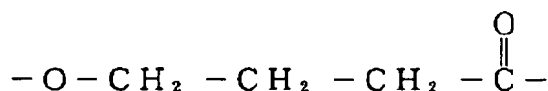
【0018】(3) 3-ヒドロキシブチレート (3HB)  
ユニットを 60~90 モル%、3-ヒドロキシ-2-  
メチルプロピオネート (3H2MP) ユニットの 1~  
10 モル%、3-ヒドロキシバリレート (3HV) ユニ  
ットを 5~39 モル%、および 4-ヒドロキシブチレ  
ート (4HB) ユニットの 1~34 モル%有してなる 4 成  
分系共重合体、

【0019】

【化19】

<sup>7</sup>  
4HB

8

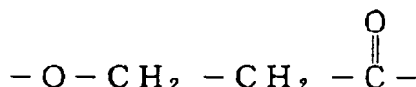


【0020】(4) 3-ヒドロキシブチレート (3HB) ユニットを60~90モル%、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニットを1~10モル%、3-ヒドロキシバリレート (3HV) ユニットを5~39モル%、および3-ヒドロキシプロピオネート (3HP)

\* ネット (3HP) ユニットを1~15モル%有してなる4成分系共重合体、

【0021】

【化20】

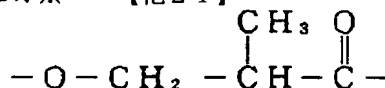


【0022】(5) 炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸を用い、炭素源以外の必須栄養素の制限下にアルカリゲネス属に属する菌株を培養することを特徴とする、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP)

※ ネット (3H2MP) ユニットを含有する共重合体の製造法、

【0023】

【化21】

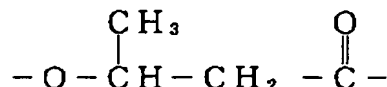


【0024】(6) 炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸の他に、グルコース、フルクトース、プロピオン酸および吉草酸よりなる群から選ばれる少なくとも1種を用い、炭素源以外の必須栄養素の制限下にアルカリゲネス属に属する菌株を培養することを特徴とする、3-ヒドロキシブチレート (3HB) ユニット、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニットおよび3-ヒドロキシバリレート (3HV) ユニットからなる3成分系共重合体の製造法、

【0025】

【化22】

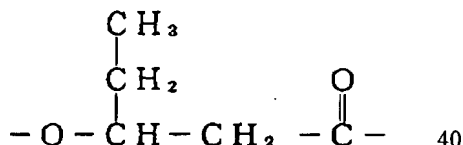
3HB



【0026】

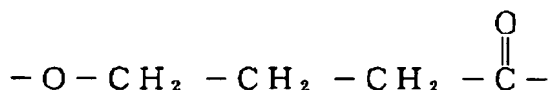
【化23】

3HV



4HB

★



【0029】(8) 炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸の他に、3-ヒドロキシプロピオン酸および/または1, 5-ペンタンジオールを用い、炭素源以外の必須栄養素の制限下にアルカリゲネス属に属する菌株を培養することを特徴とする、3-ヒドロキシ

★ 【0027】(7) 炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸の他に、4-ヒドロキシ酪酸および/またはγ-ブチロラクトンを用い、炭素源以外の必須栄養素の制限下にアルカリゲネス属に属する菌株を培養することを特徴とする、3-ヒドロキシブチレート

(3HB) ユニット、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニット、3-ヒドロキシバリレート (3HV) ユニットおよび4-ヒドロキシブチレート (4HB) ユニットからなる4成分系共重合体の

30 製造法、および

【0028】

【化24】

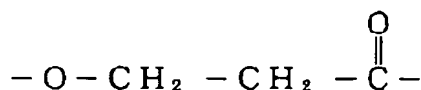
ブチレート (3HB) ユニット、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート (3H2MP) ユニット、3-ヒドロキシバリレート (3HV) ユニットおよび3-ヒドロキシプロピオネート (3HP) ユニットからなる4成分系共重合体の製造法、

50

【0030】

\* \* 【化25】

3HP



【0031】に関する。

【0032】本発明の共重合体は、カルボニル炭素から数えて2位の炭素原子にアルキル基が結合したモノマーユニットである3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート(3H2MP)ユニットを含有することを特徴とするものである。本発明の共重合体において、3H2MP

10

ユニットを含有するものであれば他のモノマーユニットについては特に限定されず、従来公知の様々なモノマーユニットが用いられる。

【0033】本発明の共重合体を例示すると、(1)3HB、3H2MP、3HVユニットからなる3成分系共重合体、(2)3HB、3H2MP、3HV、4HBユニットからなる4成分系共重合体、(3)3HB、3H2MP、3HV、3HPユニットからなる4成分系共重合体、等が好適なものとして挙げられる。

【0034】本発明の共重合体を構成する各モノマーユニットの組成比については、特に限定されるものではないが、前記に例示した共重合体については、通常次のような組成比のものが好適である。

(1)3HBユニットを60~90モル%、3H2MPユニットを1~10モル%、および3HVユニットを5~39モル%有してなる3成分系共重合体、(2)3HBユニットを60~90モル%、3H2MPユニットを1~10モル%、3HVユニットを5~39モル%、4HBユニットを1~34モル%有してなる4成分系共重合体、および(3)3HBユニットを60~90モル%、3H2MPユニットを1~10モル%、3HVユニットを5~39モル%、3HPユニットを1~15モル%有してなる4成分系共重合体。

20

【0035】本発明の上記の共重合体は、いずれも新規な化合物であり、従来かかる生分解性プラスチックの構成モノマーユニットとしては知られていなかった3H2MPユニットを含む。この3H2MPユニットは2位の炭素原子にメチル基が結合したものであるため、3HBユニットや3HVユニットのような3位の炭素原子にアルキル基が結合したユニットからなるコポリマー構造の規則性を崩し、結晶性の故に硬くて脆いという欠点を改良する特性を有することが期待される。

30

【0036】次に、本発明の共重合体の製造法について説明する。本発明に用いられる微生物は、前記のような共重合体の合成能を有するアルカリゲネス属、バチルス属、シュードモナス属あるいはアゾトバクター属の微生物であれば特に限定されるものではない。特に好ましいのは、アルカリゲネス属の微生物であり、例えばアルカリゲネス・ユートロファスを用いられる。

40

【0037】本発明の3H2MPユニットを含有する共重合体は、例えばアルカリゲネス・ユートロファスを3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸を炭素源として用い、炭素源以外の必須栄養素の制限下に培養することにより、菌体内生成物として得ることができる。この場合、後述の実施例で示すように3HB、3H2MP、3HVユニットからなる3成分系共重合体を得ることができる。本発明の共重合体を構成するモノマーユニットの種類及び組成比は、後述のような後培養に用いられる炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸の他に各種の炭素化合物を添加することにより、種々の所望のモノマーユニット及び組成比に変えることができる。

【0038】例えば、本発明の3HBユニット、3H2MPユニット、3HVユニットからなる3成分系共重合体を得るには、前記のように3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸を炭素源とすることにより得ることができるが、炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸の他に、グルコース、フルクトース、プロピオン酸および吉草酸よりなる群から選ばれる少なくとも1種を用いることによりその組成比を所望のものに調製することができる。例えば、フルクトースや吉草酸の約1%の添加により3HBユニットの組成比は無添加の場合と比べて90モル%から70モル%へと大きく減少し、その分他の構成成分の組成比が上昇する。

【0039】また、本発明の4成分系共重合体を得るには、例えば、炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸の他に、4-ヒドロキシ酪酸および/またはγ-ブチロラクトンを添加することにより、4HBユニットをも構成モノマーユニットとして含む共重合体、即ち、3HBユニット、3H2MPユニット、3HVユニットおよび4HBユニットからなる4成分系共重合体を得ることができる。同様に、炭素源として3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸の他に、3-ヒドロキシプロピオン酸および/または1,5-ペンタンジオールを添加することにより、3HPユニットをも含む共重合体、即ち、3HBユニット、3H2MPユニット、3HVユニットおよび3HPユニットからなる4成分系共重合体を得ることができる。

【0040】本発明において微生物を用いて共重合体を合成するには、前記のように炭素源以外の栄養素の制限下、通常、従来から知られている窒素源制限条件下で培養することによって容易に得られるが、炭素源以外の必須栄養素、例えば、リン、ミネラル、ビタミン等を制限しても共重合体は誘導される。この場合、菌体の生育が

50

抑えられるので、通常共重合体の合成は2段方式で行なわれる。

【0041】1段目は菌体の増殖を目的とするものであり、栄養源の豊富な条件下で培養される。この際、菌体は共重合体の合成をほとんど行なわないので、炭素源としては脂肪酸に限らず、資化可能なものであれば自由に選択できる。例えば、常法により、次のように前培養を行う。イーストエキス(1%)、ポリペプトン(1%)、肉エキス(0.5%)および硫酸アンモニウム(0.5%)を含む培地(pH7.0)にアルカリゲネス属に属する菌株を接種し、28~37℃にて16~36時間振盪培養した後、培養ブロスから菌体を遠心分離により分離する。

【0042】このような1段目で得られた菌体を洗浄回収して2段目(後培養)において新たに炭素源を加えて共重合体を誘導培養する。従って、この2段目の培養条件が重要であり、2段目において与えられる炭素源が共重合体の合成原料であり、この炭素源の化学構造が得られる共重合体の構造を決定するといつてよい。従って、本発明において炭素源とは、2段目(後培養)で与えられる炭素源を意味しており、炭素源を種々調整することにより、種々のモノマーユニットからなる共重合体(種々の組成比からなる共重合体)を合成することができる。

【0043】2段目の培養は、例えば以下のように行う。脱イオン水に3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸(1%)、リン酸水素二カリウム(0.008M)、リン酸水素二ナトリウム(0.155M)、硫酸マグネシウム(0.02%)およびミネラル溶液少量を溶解した培地に菌体全量を加え、28~37℃で24~96時間振盪培養する。前培養および後培養に用いられる培地成分の濃度は適宜変更が可能であり、また他の成分を必要に応じて添加することも可能である。ただし、本発明の後培養においては、炭素源以外の必須栄養源を制限し、菌の増殖を抑え、共重合体の合成反応を効率的に行わしめることが重要である。このとき、窒素源も制限されるが、この際のC/N比は7以上が好ましく、窒素源を加えなくても共重合体の誘導は可能である。C/N比が7より小さいと炭素源は菌体の増殖のためのエネルギー代謝用、菌体構成成分の合成用に消費され、共重合体の合成に使用される量が減少して共重合体収率が著しく低下する。また、この2段目の培養条件としては、通常pH6~8、温度25~35℃、通気量0.5~2vvm、培養時間24~96hrである。

【0044】培養終了後、菌体を蒸留水等で洗浄し、凍結乾燥を行うことにより乾燥菌体を得る。合成された共重合体は菌体内に顆粒状に蓄積される。従って、共重合体を単離するには、このようにして得られる乾燥菌体より、共重合体を例えばソックスレー抽出器等により溶剤抽出する。抽出溶剤にはクロロホルム、ジクロロメタン

等が用いられる。得られた抽出液にヘキサン、ジエチルエーテル、メタノール等の非極性溶媒を添加し、生ずる沈澱をろ過、あるいは遠心分離により回収し、乾燥することによって、高純度の共重合体を得ることができる。

#### 【0045】

【実施例】以下、本発明を具体的に実施例により説明するが、本発明は以下の実施例に何ら限定されるものではない。

#### 【0046】実施例1

10 アルカリゲネス・ユートロファス(ATCC17699)を、イーストエキス(10g)、ポリペプトン(10g)、肉エキス(5g)、硫酸アンモニウム(5g)を含む脱イオン水1000ml(pH7.0)からなる培地に接種し、30℃にて24時間振盪培養(前培養)した。培養終了後、培養ブロスを遠心分離して菌体を回収し、さらに、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸(10g)、0.5Mリン酸水素二カリウム水溶液15ml、1.25Mリン酸水素二ナトリウム水溶液124ml、20%硫酸マグネシウム水溶液1ml、ミネラル水溶液1mlを含む脱イオン水1000ml中に菌体全量を懸濁し、30℃で48時間振盪培養(後培養)した。ここで使用したミネラル溶液とは、0.1N-HClの1000ml中に $\text{CoCl}_2$  (119.0mg)、 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (118.0mg)、 $\text{FeCl}_2$  (9.7g)、 $\text{CrCl}_2$  (62.2mg)、 $\text{CaCl}_2$  (7.8g)および $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (156.4mg)を含む水溶液をいう。

30 【0047】培養終了後、菌体を蒸留水で洗浄し、凍結乾燥して乾燥菌体を得た。このようにして得られた乾燥菌体から生成した共重合体を単離するため、ソックスレー抽出器を用いて乾燥菌体をクロロホルムで61℃、5時間抽出処理した。このクロロホルム抽出液にヘキサンを10倍量加えて共重合体を沈澱回収した。収量は、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸に対して16%であった。

40 【0048】得られた共重合体を硫酸酸性下で100℃、140分メタノリシスを行ない、モノマー体をメチルエステルとしてキャピラリーガスクロマトグラフにより昇温分析した。その結果を図1に示した。また、得られた共重合体を重クロロホルムに溶解し、500MHz-NMRにてスペクトルを測定し、その構造を解析した。その結果を図2に示す。図1および図2から明らかに、炭素源として、3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸を用いると、3HBユニットおよび3HVユニット以外に、2位の炭素原子にメチル基が結合した3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオネート(3H2MP)ユニットを含む3成分系共重合体を得られたことが分かる。なお、このときのモル分率は、3HBユニット：3H2MPユニット：3HVユニット=90：3：7であった。



## 【0049】実施例2

後培養において、炭素源としてフルクトース10g/リットルをさらに添加したこと以外は実施例1と同一の条件で実験を行った。その結果、3HBユニット：3H2MPユニット：3HVユニット=72：10：18のモル分率からなる3成分系共重合体を得られた。その収量はフルクトースおよび3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸に対して21%であった。

## 【0050】実施例3

後培養において、炭素源として4-ヒドロキシ酪酸10g/リットルをさらに添加したこと以外は実施例1と同一の条件で実験を行った。その結果、3HBユニット：3H2MPユニット：3HVユニット：4HBユニット=86：3：5：8のモル分率からなる4成分系共重合体を得られた。その収量は4-ヒドロキシ酪酸および3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸に対して14%であった。

## 【0051】実施例4

後培養において、炭素源として3-ヒドロキシプロピオン酸10g/リットルをさらに添加したこと以外は実施例1と同一の条件で実験を行った。その結果、3HBユニット：3H2MPユニット：3HVユニット：3HPユニット=82：5：7：6のモル分率からなる4成分系共重合体を得られた。その収量は3-ヒドロキシプロピオン酸および3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸に対して13%であった。

## 【0052】実施例5

後培養において、炭素源としてプロピオン酸10g/リ\*  
 \*

リットルをさらに添加したこと以外は実施例1と同一の条件で実験を行った。その結果、3HBユニット：3H2MPユニット：3HVユニット=72：3：25のモル分率からなる3成分系共重合体を得られた。その収量はプロピオン酸および3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸に対して18%であった。

## 【0053】

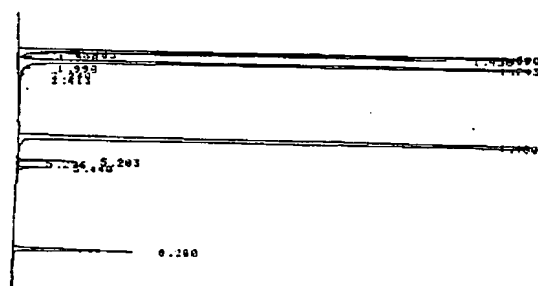
【発明の効果】微生物の産生する共重合体は、自然環境下で分解される生分解性プラスチックであるが、従来知られているものは、結晶性が高くそのため硬くて脆いという欠点を有していた。これに対し、本発明においては、3位の炭素原子に置換基を有するモノマーユニットの他に、2位の炭素原子に置換基を有する3H2MPユニットをも構成成分として含む新規な共重合体を提供するものである。かかる新規な共重合体は、構成成分である3H2MPモノマーユニットの存在によりコポリマー構造の規則性が崩れ、結晶性が低下し、そのため可塑性が増す等のポリマー物性の改良が期待されたものであり、生分解性のプラスチックとして優れた性質を有する。

## 【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、実施例1で得られたP(3HB-co-3H2MP-co-3HV)を加水分解した後エステル化したもののガスクロマトグラフィーによる分析結果である。

【図2】図2は、図1に用いたものと同一サンプルについて測定した<sup>1</sup>H-NMR(500MHz)スペクトルを示す。

【図1】



ピークNo.	R.T.	成分
1	4.400	3-ヒドロキシ酪酸メチルエステル
2	5.203	ピークの副生産物
3	5.440	3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸メチルエステル
4	8.280	3-ヒドロキシ吉草酸メチルエステル

【図2】

